

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
7. Juni 2001 (07.06.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/40461 A2

(51) Internationale Patentklassifikation: C12N 15/12, C07K 14/47, 16/18, A61K 48/00

(74) Anwalt: BÖSL, Raphael; Bardehle Pagenberg Dost Altenburg Geissler Isenbruck, Galileiplatz 1, 81679 München (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/12197

(22) Internationales Anmeldedatum:
5. Dezember 2000 (05.12.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
199 58 680.2 6. Dezember 1999 (06.12.1999) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): MULTIGENE BIOTECH GMBH [DE/DE]; Biozentrum, Am Hubland, 97074 Würzburg (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CR, CU, CZ, DM, EE, GD, GE, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LT, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, US, UZ, VN, YU, ZA.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): GROSS, Hans, Joachim [DE/DE]; Lengfelderstrasse 49, 97078 Würzburg (DE). REUTER, Tanja [DE/DE]; Wredestrasse 5c, 97082 Würzburg (DE). HANENBERG, Helmut [DE/DE]; Botanischer Garten 7, 40225 Düsseldorf (DE). HERT-ERICH, Sabine [DE/DE]; Hauptstrasse 103, 97229 Ramsthal (DE). WAGNER, Matthias [DE/DE]; Rotscheibengasse 3, 97070 Würzburg (DE).

Veröffentlicht:

— Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: CDNA SEQUENCE OF TWO INTERACTORS FANCIP4 AND FANCIP5 OF THE FANCONI ANAEMIA PROTEINS OF THE COMPLEMENTATION GROUPS A AND C

(54) Bezeichnung: cDNA-SEQUENZEN VON ZWEI INTERAKTOREN FANCIP4 UND FANCIP5 DER FANCONI-ANÄMIE-PROTEINE DER KOMPLEMENTATIONSGRUPPEN A UND C

(57) Abstract: The present invention relates to the cDNAs of two interactors (FANCIP4 and FANCIP5) of the Fanconi anaemia protein of the complementation groups A and C (FANCA and FANCC) and the corresponding encoded polypeptides and proteins. The invention also relates to the corresponding genes, antibodies directed against the proteins, FANCIP4- or FANCIP5-transgenic organisms and cells as well as to the use of FANCIP4 or FANCIP5 for effector screening. The invention further relates to the pharmaceutical use of the inventive nucleic acids, polypeptides, proteins and antibodies.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft die cDNAs von zwei Interaktoren (FANCIP4 UND FANCIP5) des Fanconi-Anämie-Proteins der Komplementationsgruppen A und C (FANCA und FANCC) sowie die davon codierten Polypeptide und Proteine. Weitere Gegenstände sind die entsprechenden Gene, gegen die Proteine gerichtete Antikörper, FANCIP4- bzw. FANCIP5-transgene Organismen und Zellen sowie die Verwendung von FANCIP4 bzw. FANCIP5 zum Effektor-Screening und die pharmazeutische Anwendung der Nukleinsäuren, der Polypeptide, der Proteine und der Antikörper.

WO 01/40461 A2

cDNA-Sequenzen von zwei Interaktoren FANCIP4 und FANCIP5 der Fanconi-Anämie-Proteine der Komplementationsgruppen A und C

Beschreibung

5

Umfang der Erfindung

Die vorliegende Erfindung betrifft die cDNAs von zwei Interaktoren (FANCIP4 und FANCIP5) der Fanconi-Anämie-Proteine der Komplementationsgruppen A und C (FANCA und FANCC) sowie die davon codierten Polypeptide und Proteine. Weitere

10 Gegenstände sind die entsprechenden Gene, gegen die Polypeptide oder Proteine gerichtete Antikörper, FANCIP4- bzw. FANCIP5-transgene Organismen und Zellen sowie die Verwendung von FANCIP4 bzw. FANCIP5 zum Effektor-Screening und die pharmazeutische Anwendung der Nukleinsäuren, der Polypeptide, der Proteine und der Antikörper.

15

Hintergrund der Erfindung

Fanconi-Anämie (im folgenden als "FA" bezeichnet) ist eine autosomal rezessiv erbliche Erkrankung, die sich klinisch mit Symptomen wie progressive Pancytopenie, angeborenen Mißbildungen und erhöhtem Risiko für Krebserkrankungen manifestiert

20 (Glanz und Fraser, 1982). Mindestens 15% der FA-Patienten entwickeln myeloische Leukämien (Auerbach und Allen, 1991).

Cytogenetisch sind FA-Zellen durch eine Hypersensitivität gegenüber DNA-quervernetzenden Agenzien, wie z.B. Mitomycin C (MMC) und Diepoxybutan (DEB),

25 charakterisiert, die sich in Chromosomenbrüchen und -aberrationen manifestiert (Auerbach, 1993). FA-Lymphozyten und -Fibroblasten weisen nach Behandlung mit MMC eine Verzögerung bzw. einen Arrest in der G2-Phase des Zellzyklus auf (Kubbies et al., 1985; Seyschab et al., 1995). Zudem ist bei FA-Zellen eine erhöhte Sauerstoffempfindlichkeit zu beobachten (Joenje et al. 1981; Schindler und Hoehn,

30 1988; Poot et al., 1996).

Anhand somatischer Zellfusionsstudien konnten für FA mindestens acht verschiedene Komplementationsgruppen (A bis H) unterschieden werden (Joenje et

al., 1997). Bisher wurden die Gene für drei Komplementationsgruppen identifiziert: FANCC (Strathdee et al., 1992; WO93/22435), FANCA (Lo Ten Foe et al., 1996; The Fanconi anaemia/Breast cancer consortium, 1996; WO98/14462), FANCG (Saar et al., 1998; de Winter et al., 1998), FANCF (de Winter et al., 2000) und FANCE (de Winter et al., 2000). Obwohl die molekulare Wirkungsweise der FA-Proteine immer noch unbekannt ist, deutet der zelluläre Phänotyp und das erhöhte Krebsrisiko bei einem Gendefekt auf eine Beteiligung bei der DNA-Reparatur, der Zellzyklus-Regulation und/oder der Hämatopoiese hin. Die Ähnlichkeit des klinischen und zellulären Phänotyps der verschiedenen Komplementationsgruppen und die Erkenntnis, daß das FANCA- und das FANCC-Protein unter FANCA-Phosphorylierung interagieren und als Komplex in den Zellkern transportiert werden (Kupfer et al., 1997a; Yamashita et al., 1998), lassen auf eine Protein-Kaskade oder ein funktionelles Zusammenwirken der FA-Proteine in einem Komplex schließen. Für FANCG konnte die Beteiligung an diesem Komplex ebenfalls gezeigt werden (Garcia-Higuera et al., 1999; Waisfisz et al., 1999; Reuter et al., 2000).

Entscheidende Fortschritte bei der Entschlüsselung der molekularen Ursachen der FA-Pathogenese können über die Identifikation der beteiligten Gene bzw. Proteine erzielt werden. Als FANCC-Interaktoren sind bislang die Cyclin-abhängige Kinase cdc2 (Kupfer et al., 1997b), das Chaperon GRP94 (Hoshino et al., 1998) und die NADPH:Cytochrom c-Reduktase (Kruyt et al., 1998) veröffentlicht, als potentiell Pathogenese-relevant wurden die Fanconi-Gene 1 und 2 eingestuft (Planitzer et al., 1998; WO98/16637 und WO98/45428).

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung bestand darin, Interaktoren der Fanconi-Anämie-Proteine FANCA und FANCC zu finden. Auf Grundlage der FA-Pathogenese als Modellsystem für Mechanismen zur Aufrechterhaltung genetischer Stabilität war das Ziel, Bestandteile eines Proteinkomplexes bzw. einer Proteinkaskade zu identifizieren, die eine Rolle bei der DNA-Reparatur, der Zellzyklusregulation und/oder der Onkogenese spielen.

Zusammenfassung der Erfindung

Die vorliegende Erfindung beschreibt die Identifizierung von zwei cDNAs, die für Proteine codieren und mit FANCIP4 bzw. FANCIP5 bezeichnet wurden. Die cDNA-Sequenzen wurden unter Verwendung einer Interaction Trap-Version des Hefe-Two-Hybrid-Systems (Fields und Song, 1989; Finley Jr. et al., 1996) gefunden, wobei die Proteine der Komplementationsgruppen A und C (FANCA und FANCC) als Köder dienten. Die durch die FANCIP4- bzw. FANCIP5-cDNA codierten Proteine interagieren sowohl mit FANCA als auch mit FANCC und können somit Teil des Komplexes bzw. der Signaltransduktionskaskade sein, die bei Defekt zur FA-Pathogenese führt. Die FANCIP4- bzw. FANCIP5-cDNA und die davon codierten Proteine, aber auch die entsprechenden Gene und gegen die Proteine gerichtete Antikörper sind daher als diagnostische, therapeutische oder präventive Mittel für Erkrankungen geeignet, die mit DNA-Reparatur-Defekten, Zellzyklus-Störungen, Cytopenien, Tumorgenese und/oder Tumorprogression assoziiert sind. Sie können weiterhin als Targets für Verfahren zum Effektor-Screening dienen, um neue Medikamente zur Behandlung der zuvor genannten Erkrankungen zu entwickeln.

Die vorliegende Erfindung betrifft Nukleinsäuren, welche

- a) die in Fig. 1 (FANCIP4) bzw. Fig. 3 (FANCIP5) dargestellten Nukleotidsequenzen oder einen Protein-codierenden Abschnitt davon,
 - b) eine der Sequenzen aus a) im Rahmen der Degeneration des genetischen Codes entsprechende Nukleotidsequenzen,
 - c) eine mit den Sequenzen aus a) und/oder b) unter stringenten Bedingungen hybridisierenden Nukleotidsequenzen oder
 - d) zu den Sequenzen aus a) und/oder b) komplementäre Sequenzen umfaßt.
- Die in Fig. 1 dargestellte Nukleotidsequenz (FANCIP4) enthält einen offenen Leserahmen, der einem Protein mit einer Länge von 492 Aminosäuren entspricht. Die Aminosäuresequenz dieses Proteins ist in Fig. 2 dargestellt. Das Protein besitzt eine Peptidyl-Prolyl-cis-trans-Isomerase-Domäne, eine RNA-Erkennungsdomäne

sowie eine C-terminale Kernlokalisierungssequenz. Die in Fig. 3 dargestellte Nukleotidsequenz (FANCIP5) enthält einen offenen Leserahmen, der einem Protein mit einer Länge von 549 Aminosäuren entspricht. Die Aminosäuresequenz dieses Proteins ist in Fig. 4 dargestellt. Das Protein besitzt eine N-terminale

5 Kernlokalisierungssequenz sowie ein internes ATP/GTP-Bindungsmotiv.

Für FANCIP4 fanden sich zum Zeitpunkt der prioritätsbegründenden Erstanmeldung DE 199 58 680.2 in der EST-Sequenzdatenbank am "National Center for Biotechnology Information" (NCBI) als Beispiele folgende humane cDNA-Klone, die

10 Teilbereiche der in Fig. 1 angegebenen Nukleotidsequenz enthalten: Zugangsnummern AI880208, AA425562, AA346646 und N22655. Zudem existiert ein homologer genomischer Klon mit der Zugangsnummer AC006042. Für das abgeleitete Protein FANCIP4 (Fig. 2) finden sich in der Proteindatenbank des NCBI bekannte Proteine mit bis zu 42% Teilhomologien. Als Beispiele seien folgende

15 Einträge genannt: Zugangsnummern Z97628, AF132148, AL109846, P52017, AC007135, U58755, AF151882, AJ000917, P87051, AJ000916, AL023828, AF000668, AL023704, U37220, U37221, S64705, D38552, AF043642, AJ004826 und AF154878. Bei diesen Proteinen handelt es sich um Peptidyl-Prolyl-cis-trans-Isomerasen bzw. Cyclophiline aus diversen Organismen. Diese Enzym-Gruppe erfüllt

20 Funktionen vor allem im Bereich der Proteinfaltung, zudem bei der Signaltransduktion und Zellzyklusregulation (Übersichtsartikel: Göthel und Marahiel, 1999). Der Homologiegrad weist auf die Zusammengehörigkeit von FANCIP4 zu einer neuen Gruppe im Bereich dieser Proteinfamilie hin, schließt aber die vollständige Identität zu einem bekannten humanen Protein aus.

25

Für FANCIP5 fanden sich zum Zeitpunkt der prioritätsbegründenden Erstanmeldung DE 199 58 680.2 in der EST-Sequenzdatenbank des NCBI cDNA-Klone die Teilbereiche der in Fig. 3 angegebenen Nukleotidsequenz enthalten. Als Beispiele seien folgende Einträge genannt: Zugangsnummern AL040968, AL040878,

30 AA876119, AI810630, AA662674, AI624158, AA436573, AI139291, AI610191, AI628041, AI223312, H53723, AA223723, AA101504, AI393334, AA125853, AA166669, AA609710, AI620201 und AA428869. Unter diesen Zugangsnummern finden sich jedoch keine Angaben über einen vollständigen offenen Leserahmen. Für

das abgeleitete Protein FANCIP5 (Fig. 4) finden sich in der Proteindatenbank des NCBI Proteine mit bis zu 36% Teilhomologien. Als Beispiele seien folgende Einträge genannt: Zugangsnummern Z49068, AL031743, S40612, P53742, U69600, Q13823, Z98981, P40010, AL021571, AL021571, AP000003, AJ248287, AF003143, G64482, Q10190, AC004044, AF124737, AE001166, AC007290 und AE001746. Die meisten dieser Proteine werden als hypothetische GTP-bindende Proteine bzw. als Homologe zu GTP-bindenden Proteinen bezeichnet. Aufgrund des niedrigen Homologiegrads zu den angegebenen Proteinsequenzen kann die abgeleitete FANCIP5-Sequenz als neuartig innerhalb der Gruppe GTP-bindender Proteine angesehen werden.

10

Die vorliegende Erfindung umfaßt neben der in Fig. 1 bzw. Fig. 3 gezeigten Nukleotidsequenz und einer dieser Sequenzen im Rahmen der Degeneration des genetischen Codes entsprechenden Nukleotidsequenzen auch noch Nukleotidsequenzen, die mit einer der zuvor genannten Sequenzen hybridisiert. Der Begriff "Hybridisierung" gemäß vorliegender Erfindung wird wie bei Sambrook et al. (1989) verwendet.

15

Die Erfindung betrifft weiterhin Nukleinsäuren, die einen Protein-codierenden Abschnitt der in Fig. 1 bzw. Fig. 3 dargestellten Nukleotidsequenz oder eine Sequenz, die eine Homologie von mehr als 65%, vorzugsweise mehr als 80% oder einen vorzugsweise mindestens 15, insbesondere mindestens 30 Nukleotide langen Abschnitt davon aufweist. Weiterhin können die erfindungsgemäßen Nukleotidsequenzen auch RNAs, modifizierte Nukleinsäuren und Nukleinsäureanaloge, z.B. Peptid-Nukleinsäuren, umfassen.

20

Erfindungsgemäße Nukleinsäuren können aus Säugern nach bekannten Techniken unter Verwendung kurzer Abschnitte der in Fig. 1 bzw. Fig. 3 gezeigten Nukleotidsequenz als Hybridisierungssonden und/oder Primer nach bekannten Methoden isoliert werden. Weiterhin können erfindungsgemäße Nukleinsäuren auch durch chemische Synthese hergestellt werden, wobei anstelle der üblichen Nukleotidbausteine auch modifizierte Nukleotidbausteine (z.B. methylierte oder 2'-O-alkylierte Nukleotide oder Phosphorthioate) eingesetzt werden können. Nukleinsäuren, die teilweise oder vollständig aus modifizierten Nukleotidbausteinen

30

bestehen, können beispielsweise als therapeutische Mittel, z.B. als Antisense-Nukleinsäuren oder als Ribozyme, eingesetzt werden.

Die vorliegende Erfindung betrifft weiterhin einen Vektor, der mindestens eine Kopie
5 einer der erfindungsgemäßen Nukleinsäuren oder einen Abschnitt davon enthält.
Dieser rekombinante Vektor kann ein beliebiger prokaryotischer oder eukaryotischer
Vektor sein, auf dem sich eine erfindungsgemäße DNA-Sequenz befindet und/oder
der die Expression einer erfindungsgemäßen Nukleinsäure in einer geeigneten
Wirtszelle ermöglicht. Beispiele für prokaryotische Vektoren sind chromosomale
10 Vektoren, wie Bakteriophagen, und extrachromosomale Vektoren, wie zirkuläre
Plasmidvektoren. Beispiele für eukaryotische Vektoren sind Hefektoren oder für
höhere Zellen geeignete Vektoren, wie Plasmidvektoren oder virale Vektoren.

Die Erfindung betrifft auch einen Vektor, der vorzugsweise mindestens einen 15
15 Nukleotide langen Abschnitt der in Fig. 1 bzw. Fig. 3 dargestellten Sequenzen
enthält. Vorzugsweise besitzt dieser Abschnitt eine Nukleotidsequenz, die aus dem
Protein-codierenden Bereich der in Fig. 1 bzw. Fig. 3 dargestellten Sequenzen oder
einem für die Expression des Proteins wesentlichen Bereich stammt. Diese
Nukleinsäuren eignen sich besonders zur Herstellung von therapeutisch
20 einsetzbaren Antisense-Nukleinsäuren.

Die vorliegende Erfindung betrifft weiter eine Zelle, die mit einer der
erfindungsgemäßen Nukleinsäuren oder einem erfindungsgemäßen Vektor
transformiert ist. Die Zelle kann sowohl eine eukaryotische als auch eine
25 prokaryotische Zelle sein. Beispiele eukaryotischer Zellen sind insbesondere
Säugerzellen. Ebenfalls Gegenstand sind FANCIP4- bzw. FANCIP5-transgene
Organismen, wie z.B. knock in- oder knock out-Tiermodelle. Tiermodelle, die das
Produkt der Nukleinsäure stabil exprimieren, werden als knock in-Tiermodelle, jene,
deren entsprechendes natürliches Gen gezielt zerstört wurde, als knock out-
30 Tiermodelle bezeichnet.

Die vorliegende Erfindung umfaßt von den oben angegebenen Nukleinsäuren
codierte Polypeptide und Proteine. Diese Polypeptide und Proteine weisen die in Fig.

2 bzw. Fig. 4 dargestellte Aminosäuresequenz oder eine Homologie von mehr als 60%, vorzugsweise mehr als 70% zu der in Fig. 2 bzw. Fig. 4 dargestellten Aminosäuresequenz auf. Die Erfindung betrifft auch Varianten und Fragmente des in Fig. 2 bzw. Fig. 4 dargestellten Polypeptids oder Proteins. Unter Varianten sind

5 Sequenzen zu verstehen, die sich durch Substitution, Deletion und/oder Insertion einzelner Aminosäuren oder kurzer Aminosäureabschnitte von der in Fig. 2 bzw. Fig. 4 dargestellten Aminosäuresequenz unterscheiden. Hierunter fallen sowohl natürlich vorkommende allelische Variationen oder Spleißvariationen von FANCIP4 bzw. FANCIP5 als auch durch rekombinante DNA-Technologie, insbesondere durch in

10 vitro-Mutagenese mit Hilfe von chemisch synthetisierten Oligonukleotiden erzeugte Polypeptide und Proteine, die hinsichtlich ihrer biologischen und/oder immunologischen Aktivität den in Fig. 2 bzw. Fig. 4 dargestellten Polypeptid oder Protein im wesentlichen entsprechen. Ebenfalls fallen unter diesen Begriff auch chemisch modifizierte Polypeptide. Hierzu gehören Polypeptide, die an den Termini

15 und/oder an reaktiven Aminosäureseitengruppen durch Acylierung oder Amidierung modifiziert sind.

Die Erfindung betrifft ebenfalls Verfahren, die zur Herstellung der erfindungsgemäßen Polypeptide und Proteine führen und sowohl die Kultivierung

20 entsprechend transformierter Zellen als auch die Isolierung der erfindungsgemäßen Proteine umfassen.

Die Erfindung betrifft weiterhin die Verwendung erfindungsgemäßer Polypeptide und Proteine oder deren Fragmente Immunogene zur Herstellung von Antikörpern. Die

25 Herstellung von Antikörpern kann dabei auf übliche Weise durch Immunisierung von Versuchstieren mit dem vollständigen Polypeptid, Protein oder Fragmenten davon und anschließende Gewinnung der resultierenden polyklonalen Antiseren erfolgen. Nach bekannten Methoden können monoklonale Antikörper hergestellt werden. Die vorliegende Erfindung umfaßt somit auch Antikörper gegen FANCIP4 bzw. FANCIP5

30 oder eine Variante davon.

Das von den erfindungsgemäßen Nukleinsäuren codierte FANCIP4 bzw. FANCIP5 kann als Target für eine gezielte Suche nach Effektoren eingesetzt werden.

Substanzen, die auf erfindungsgemäße Proteine inhibitorisch oder aktivierend wirken, sind in der Lage, die durch diese Proteine gesteuerten Zellfunktionen selektiv zu beeinflussen. Daher können sie bei der Therapie entsprechender Krankheitsbilder, wie z.B. Cytopenien oder Tumoren, eingesetzt werden. Ein

5 Gegenstand der Erfindung ist somit auch ein Verfahren zur Identifizierung von Effektoren des FANCIP4 bzw. FANCIP5, wobei man Zellen, die das Protein exprimieren, mit verschiedenen potentiellen Effektorsubstanzen, in Kontakt bringt und die Zellen auf Veränderungen, z.B. zellaktivierende, zellinhibierende, zellproliferative und/oder zellgenetische Veränderungen, analysiert. Zudem können

10 auf diese Weise Bindedomänen des FANCIP4 bzw. FANCIP5 identifiziert werden. Gegenstand der Erfindung sind auf obengenannte Weise ermittelte pharmazeutisch wirksame Effektor-Substanzen.

Die vorliegende Erfindung betrifft auch eine pharmazeutische Zusammensetzung, die

15 als aktive Komponente Nukleinsäuren, Vektoren, Zellen, Polypeptide, Proteine, Antikörper und/oder Effektor-Substanzen wie zuvor angegeben enthält und weiterhin pharmazeutisch übliche Träger-, Hilfs- und/oder Zusatzstoffe sowie gegebenenfalls weitere aktive Komponenten enthalten kann. Die pharmazeutische Zusammensetzung kann insbesondere zur Diagnostik, Therapie oder Prävention von

20 Erkrankungen eingesetzt werden, die mit DNA-Reparatur-Defekten, Zellzyklus-Störungen, Cytopenien, Tumorgenese und/oder Tumorprogression assoziiert sind. Dies gilt auch für die Diagnostik einer Prädisposition für solche Erkrankungen bei Individuen, insbesondere bei der Diagnostik eines Risikos für Cytopenien und/oder Tumorerkrankungen. Weiterhin wird eine gezielte Diagnostik von Krankheiten

25 ermöglicht, die mit Veränderungen der Aktivität des FANCIP4 bzw. FANCIP5 direkt oder indirekt verbunden sind. Diese Untersuchungen können mit Hilfe spezifischer Nukleinsäuresonden zum Nachweis auf Nukleinsäureebene, z.B. auf Gen- oder Transkriptebe-
ne, oder mit Hilfe von Antikörpern gegen FANCIP4 bzw. FANCIP5 zum Nachweis auf Proteinebene durchgeführt werden.

30

Bei Krankheitsbildern, die auf einen Ausfall des FANCIP4 bzw. FANCIP5 zurückzuführen sind, kann eine gentherapeutische Behandlung erfolgen, welche die Übertragung einer für das FANCIP4 bzw. FANCIP5 codierenden Nukleinsäure mittels

Vektoren, z.B. viralen Vektoren, in das entsprechende Zielgewebe umfaßt. Andererseits kann bei Krankheitsbildern, die auf eine unkontrollierte Expression des FANCIP4 bzw. FANCIP5 zurückzuführen sind, eine gentherapeutische Behandlung erfolgen, welche zu einer Blockierung dieser Expression führt.

5

Die vorliegende Erfindung betrifft auch ein Verfahren zur Diagnostik der oben genannten Erkrankungen, wobei man einen Patienten oder eine aus einem Patienten stammende Probe, z.B. eine Probe einer Körperflüssigkeit oder eines Gewebes, mit einer erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung in Kontakt bringt und die Nukleotidsequenz und/oder die Expression der erfindungsgemäßen Nukleinsäure qualitativ oder quantitativ bestimmt. Diese Bestimmungsmethoden können beispielsweise auf Nukleinsäureebene durch Verwendung von Nukleinsäure-Hybridisierungs-sonden oder über Reverse Transkription/PCR bzw. auf Proteinebene durch Antikörper nach cyto- oder histochemischen Methoden erfolgen. Die pharmazeutische Zusammensetzung kann als Marker für das Auftreten von Cytopenien, Tumoren oder anderer proliferationsassoziierten Erkrankungen oder einer Prädisposition für die genannten pathophysiologischen Veränderungen verwendet werden.

Schließlich betrifft die vorliegende Erfindung auch ein Verfahren zur Therapie oder Prävention einer der zuvor genannten Erkrankungen, wobei man dem Patienten eine erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung verabreicht, die die aktive Komponente in einer gegen die Erkrankung wirksamen Menge enthält. Spezifische Beispiele für pharmazeutische Zusammensetzungen, welche für therapeutische Zwecke geeignet sind, sind beispielsweise bispezifische Antikörper und Antikörper-Toxine bzw. Antikörper-Enzymkonjugate. Weitere bevorzugte pharmazeutische Zusammensetzungen für therapeutische Zwecke sind Antisense-Nukleinsäuren, gentherapeutische Vektoren oder Effektor-Substanzen, z.B. in Form niedermolekularer Aktivatoren oder Inhibitoren.

30

Detaillierte Beschreibung der Erfindung

Interaction Trap

Zur Klonierung von cDNAs, deren Genprodukte mit den Fanconi-Anämie-Proteinen
5 FANCA und/oder FANCC interagieren und damit eine Rolle bei der FA-Pathogenese
spielen können, wurde eine Interaction Trap-Version des Hefe-Two Hybrid-Systems
(Fields und Song, 1989; Finley Jr. et al., 1996) eingesetzt.

10 Für die Konstruktion der FANCA- und FANCC-Köderproteine wurde jeweils die
komplette codierende Sequenz der Proteine in den Vektor pEG202 über die EcoRI-
Schnittstelle im Leserahmen mit der für die LexA-DNA-bindende Domäne
codierenden Region kloniert. Für die Expression des Beuteproteins wurde der Vektor
pJG4-5 verwendet, der die Konstruktion von Fusionsproteinen mit der B42-
transaktivierenden Domäne erlaubt. Mit dem FANCA- und FANCC-Köderprotein
15 wurde jeweils eine in diesen Vektor als Fusionsgenbank klonierte HeLa-cDNA-
Bibliothek durchmustert.

Als Wirtsorganismus diente der Hefestamm EGY48. Der Nachweis einer positiven
Interaktion erfolgte durch Transkriptionsaktivierung des LEU2-Gens, woraus
20 Wachstum der Hefen auf Leucin-freiem Medium resultiert.

Vor Durchführung des Interaction Traps wurde durch Ausplattieren pEG202FANCA-
bzw. pEG202FANCC-transformierter EGY48-Hefen auf Glucose-Medium ohne
Histidin und Leucin sichergestellt, daß keine intrinsische transaktivierende
25 Eigenschaft des FANCA- bzw. FANCC-Köder-Fusionskonstruktes vorliegt.

Mit pEG202FANCA bzw. pEG202FANCC und der B42-Fusionsgenbank
cotransformierte EGY48 wurden auf Leucin-haltigem Medium auf Erhalt beider
Vektoren vorselektiert und aufgenommen. Für die Suche nach interagierenden
30 Hefeklonen wurden Aliquots auf Leucin-freiem Medium ausplattiert und 3 bis 5 Tage
bei 30 °C inkubiert. Insgesamt wurden Aliquots entsprechend einer Menge von 1×10^6
Transfektanten durchmustert. Die Abhängigkeit der Transkriptionsaktivierung
positiver Klone von der Expression des Beuteproteins wurde auf Leucin-freiem

Glucose-Medium überprüft. Die Isolierung der Interaktor-Plasmide erfolgte nach Aufzucht der Hefen in Glucose-Medium ohne Tryptophan, Elektroporation des Nukleinsäure-Isolats im E. coli-Stamm XL1blue (Stratagene) und Plasmidpräparation aus den Bakterienzellen. Zur Bestätigung der Interaktionen wurden

- 5 Retransformationen des isolierten Beute-Interaktors in Kombinationen mit unterschiedlichen Köderkonstrukten durchgeführt. In Kombination mit pEG202FANCA bzw. pEG202FANCC wurde die zuvor beobachtete Interaktion bestätigt. Außerdem wurden mögliche Interaktionen mit dem LexA-Fusionspartner ausgeschlossen, indem einerseits mit dem pEG202-Leervektor co-retransformiert
- 10 wurde und andererseits mit einem LexA-DNA-Ligase- bzw. LexA-bicoid-Köderfusionskonstrukt als Negativkontrolle.

Sequenzanalyse der FANCIP4- bzw. FANCIP5-cDNA

Die Länge der Genbank-cDNAs der isolierten Interaktorklone wurde durch

- 15 EcoRI/XhoI-Restriktionshydrolyse bestimmt. Die Ansequenzierung der cDNAs erfolgte durch eine automatisierte "Cycle Sequencing"-Methode (Applied Biosystems) unter Verwendung des Nukleinsäureprimers Bco I (5'-ACC AGC CTC TTG CTG AGT GGA GAT G-3'). Die vollständige Sequenzierung der Vektor-inserierten FANCIP4- bzw. FANCIP5-cDNA-Fragmente erfolgte mit den Nukleinsäureprimern Bco I und
- 20 Bco II (5'-GAC AAG CCG ACA ACC TTG ATT GGA G-3') sowie zusätzlichen internen FANCIP4- bzw. FANCIP5-spezifischen Primern.

Für FANCIP4 ergab sich ein 2017 Nukleotide langer cDNA-Bereich mit einem möglichen offenen Leserahmen von 1476 Nukleotiden bzw. 492 Codons. Zur

- 25 Ermittlung der 5'-Bereich-Teilsequenz der gefundenen FANCIP5-Nukleotidsequenz wurde der 5'/3' RACE Kit (Roche Diagnostics) verwendet. Hierbei kamen die sequenzspezifischen Primer FANCIP5-SP1 (5'-CTCTGTTTCCTTAGCTCAGC-3') sowie FANCIP5-SP2 (5'-TAGGCTTCTTGTGACCCTGC-3') zum Einsatz. Das erhaltene PCR-Produkt wurde elektrophoretisch gereinigt (JETquick Gel Extraction
- 30 Kit, GENOMED) und unter Verwendung des oben genannten Primers FANCIP5-SP2 direkt sequenziert. Die Zugehörigkeit der erhaltenen Nukleotidfragmente zu den Plasmid-inserierten Interaktor-Fragmenten wurde jeweils durch überlappende Sequenzbereiche bestätigt. Die zusammengesetzte Nukleotidsequenz ergab für

FANCIP5 einen 1929 Nukleotide langen cDNA-Bereich mit einem möglichen offenen Leserahmen von 1647 Nukleotiden bzw. 549 Codons.

Zur Überprüfung und Klonierung der kompletten offenen Leserahmen der FANCIP4- und FANCIP5-cDNA-Sequenzen wurden diese mittels PCR und sequenzspezifischer 5'- und 3'-Primer aus Gesamt-cDNA amplifiziert. Bei den Primern handelte es sich um FANCIP4-P (5'-AGG AGC GGG CGC CAT GGC G-3') und FANCIP4-M (5'-TGT TAG CCT CTC AAT TCT GCC-3') bzw. FANCIP5-P (5'-ACA GCC AAT ATG AAA AGG CC-3') und FANCIP5-M (5'-AAA GCC ATT GTT CTG TTA CAC-3'). Die Klonierung der PCR-Produkte erfolgte über die SmaI-Schnittstelle in den Vektor pUC19. Die inserierten PCR-Produkte für FANCIP4 und FANCIP5 wurden nach Plasmidpräparation aus transformierten E. coli-Zellen komplett sequenziert, wobei zusätzliche interne FANCIP4- bzw. FANCIP5-spezifische sowie externe pUC19-spezifische Primer verwendet wurden.

Um ähnliche Nukleotid- und Proteinsequenzen in den Sequenzdatenbanken des "National Center of Biotechnology Information" (NCBI) zu finden, wurden die cDNA-Sequenzen von FANCIP4 bzw. FANCIP5 sowie die aus den offenen Leserahmen abgeleiteten Aminosäuresequenzen unter Verwendung des Blast-Programms am NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/cgi-bin/BLAST/nph-newblast?Jform=1>) analysiert.

Kurze Beschreibung der Abbildungen

Es zeigen:

Fig. 1 (SEQ ID NO. 1) eine Nukleotidsequenz, die einen für FANCIP4 codierenden offenen Leserahmen enthält,

Fig. 2 (SEQ ID NO. 2) die Aminosäuresequenz eines offenen Leserahmens der in Fig. 1 gezeigten Nukleotidsequenz,

Fig. 3 (SEQ ID NO. 3) eine Nukleotidsequenz, die einen für FANCIP5 codierenden offenen Leserahmen enthält,

Fig. 4 (SEQ ID NO. 4) die Aminosäuresequenz eines offenen Leserahmens der in Fig. 3 gezeigten Nukleotidsequenz,

Fig. 5 (SEQ ID NOs. 5 und 6) die Nukleinsäureprimer, die zur Sequenzierung der Plasmid-inserierten FANCIP4- bzw. FANCIP5-Nukleotidsequenzen verwendet wurden,

Fig. 6 (SEQ ID NOs. 7 und 8) die Nukleinsäureprimer, die zur 5'-RACE-Analyse von FANCIP5 verwendet wurden,

10

Fig. 7 (SEQ ID NOs. 9 und 10) die Nukleinsäureprimer, die zur PCR-Amplifikation des offenen Leserahmens von FANCIP4 verwendet wurden,

Fig. 8 (SEQ IDs NOs. 11 und 12) die Nukleinsäureprimer, die zur PCR-Amplifikation des offenen Leserahmens von FANCIP5 verwendet wurden.

15

Zitierte Literatur

20 Auerbach, A.D. und Allen, R. (1991). Leukemia and preleukemia in Fanconi anemia patients. *Cancer Genet. Cytogenet.* 51, 1-12

Auerbach, A.D. (1993). Fanconi anemia diagnosis and the diepoxybutane (DEB) test. *Exp. Hematol.* 21, 731-733

25

de Winter, J.P., Waisfisz, Q., Rooimans, M.A., van Berkel, C.G.M., Bosnoyan-Collins, L., Alon, N., Carreau, M., Bender, O., Demuth, I., Schindler, D., Pronk, J.C., Arwert, F., Hoehn, H., Digweed, M., Buchwald, M. und Joenje, H. (1998). The Fanconi anemia group G gene is identical with the human XRCC9. *Nat. Genet.* 20, 281-283

30

de Winter, J.P., Rooimans, M.A., van der Weel, L., van Berkel, C.G., Alon, N., Bosnoyan-Collins, L., de Groot, J., Zhi, Y., Waisfisz, Q., Pronk, J.C., Arwert, F., Mathew, C.G., Scheper R.J., Hoatlin, M.E., Buchwald, M. und Joenje, H. (2000). The

Fanconi anaemia gene FANCF encodes a novel protein with homology to ROM. *Nat. Genet.* 24, 15-16

5 de Winter, J.P., Leveille, F., van Berkel, C.G., Rooimans, M.A., van Der Weel, L.,
Steltenpool, J., Demuth, I., Morgan, N.V., Alon, N., Bosnoyan-Collins, L., Lightfoot, J.,
Leegwater, P.A., Waisfisz, Q., Komatsu, K., Arwert F., Pronk, J.C., Mathew, C.G.,
Digweed, M., Buchwald, M. und Joenje, H. (2000). Isolation of a cDNA Representing
the Fanconi Anemia Complementation Group E Gene. *Am. J. Hum. Genet.* 67, 1306-
1308

10

The Fanconi anaemia/Breast cancer consortium (1996). Positional cloning of the
Fanconi anaemia group A gene. *Nat. Genet.* 14, 324-328

15 Fields, S. und Song, O. (1989). A novel genetic system to detect protein-protein
interactions. *Nature* 340, 245-246

Finley Jr., R.L. und Brent, R. (1996). Interaction trap cloning with yeast. In *DNA
Cloning-Expression Systems* (Hrsg. D. Glover und B.D. Hanes), Oxford University
Press, Oxford, England

20

Garcia-Higuera, I., Kuang, Y., Naf, D., Wasik, J. und D'Andrea, A.D. (1999). Fanconi
anemia proteins FANCA, FANCC, and FANCG/XRCC9 interact in a functional
nuclear complex. *Mol. Cell Biol.* 19, 4866-4873

25 Glanz, A. und Fraser, F. (1982). Spectrum of anomalies in Fanconi's anemia. *J. Med.
Genet.* 19, 412-416

Göthel, S.F. und Marahiel, M.A. (1999). Peptidyl-prolyl cis-trans isomerases, a
superfamily of ubiquitous folding catalysts. *Cell. Mol. Life Sci.* 55, 423-436

30

Hoshino, T., Wang, J., Devetten, M.P., Iwata, N., Kajigaya, S., Wise, R., Liu, J.M. und
Yousoufian, H. (1998). Molecular chaperone GRP94 binds to the Fanconi anemia
group C protein and regulates its intracellular expression. *Blood* 91, 4379-4386

Joenje, H., Arwert, F., Eriksson, A., De Koning, H. und Oostra, A. (1981). Oxygen dependence of chromosomal aberrations in Fanconi's anemia. *Nature* 290, 142-143

Joenje, H., Oostra, A.B., Wijker, M., di Summa, F.M., van Berkel, C.G.M., Rooimans, M.A., Ebell, W., van Weel, M., Pronk, J.C., Buchwald, M. und Arwert, F. (1997). Evidence for at least eight Fanconi anemia genes. *Am. J. Hum. Genet.* 61, 940-944

Kruyt, F.A.E., Hoshino, T., Liu, J.M., Joseph, P., Jaiswal, A.K. und Youssoufian, H. (1998). Abnormal microsomal detoxification implicated in Fanconi anemia group C by interaction of the FAC protein with NADPH cytochrome P450 reductase. *Blood* 92, 3050-3056

Kubbies, M., Schindler, D., Hoehn, H. und Rabinovitch, P. (1985). Endogenous blockage and delay of the chromosome cycle despite normal recruitment and growth phase explain poor proliferation and frequent endomitosis in Fanconi anemia cells. *Am. J. Human. Genet.* 37, 1022-1030

Kupfer, G.M., Näf, D., Suliman, A., Pulsipher, M. und D'Andrea, A.D. (1997a). The Fanconi anaemia proteins, FAA and FAC, interact to form a nuclear complex. *Nat. Genet.* 17, 487-490

Kupfer, G.M., Yamashita, T., Näf, D., Suliman, A., Asano, S. und D'Andrea, A.D. (1997b). The Fanconi anemia polypeptide, FAC, binds to the cyclin-dependent kinase, cdc2. *Blood* 90, 1047-1054

Lo Ten Foe, J.R., Rooimans, M.A., Bosnoyan-Collins, L., Alon, N., Wijker, M., Parker, L., Lightfoot, J., Carreau, M., Callen, D.F., Savoia, A., Cheng, N.C., van Berkel, C.G.M., Strunk, M.H.P., Gille, J.J.P., Pals, G., Kruyt, F.A.E., Pronk, J.C., Arwert, F., Buchwald, M. und Joenje, H. (1996). Expression cloning of a cDNA for the major Fanconi anaemia gene, FAA. *Nat. Genet.* 14, 320-323

- Planitzer, S.A., Machl, A.W., Rueckels, M. und Kubbies, M. (1998). Identification of a novel c-DNA overexpressed in Fanconi's anemia fibroblasts partially homologous to a putative L-3-phosphoserine-phosphatase. *Gene* 210, 297-306
- 5 Poot, M., Groß, O., Epe, B., Pflaum, M. und Hoehn, H. (1996). Cell cycle defect in connection with oxygen and iron sensitivity in Fanconi anemia lymphoblastoid cells. *Exp. Cell Res.* 222, 262-268
- Reuter, T., Herterich, S., Bernhard, O., Hoehn, H. und Gross, H.J. (1999). Strong
10 FANCA/FANCG but weak FANCA/FANCC interaction in the yeast two-hybrid system. *Blood* 95, 719-720
- Saar, K., Schindler, D., Wegner, R.D., Reis, A., Wienker, T.F., Hoehn, H., Joenje, H.,
Sperling, K. und Digweed, M. (1998). Localisation of a new Fanconi anemia gene to
15 chromosome 9p. *Eur. J. Hum. Genet.* 6, 501-508
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T. (1989). *Molecular cloning: A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York
- 20 Schindler, D. und Hoehn, H. (1988). Fanconi anemia mutation causes cellular susceptibility to ambient oxygen. *Am. J. Hum. Genet.* 43, 429-435
- Seyschab, H., Friedl, R., Sun, Y., Schindler, D., Hoehn, H., Hentze S. und
Schroeder-Kurth, T. (1995). Comparative evaluation of diepoxybutane sensitivity and
25 cell cycle blockage in the diagnosis of Fanconi anemia. *Blood* 85, 2233-2237
- Strathdee, C.A., Gavish, H., Shannon, W.R. und Buchwald, M. (1992). Cloning of cDNAs for Fanconi's anaemia by functional complementation. *Nature* 256, 763-767
- 30 Waisfisz, Q., de Winter, J.P., Kruijt, F.A., de Groot, J., van der Weel, L., Dijkmans, L.M., Zhi, Y., Arwert, F., Scheper, R.J., Youssoufian, H., Hoatlin, M.E. und Joenje, H. (1999). A physical complex of the Fanconi anemia proteins FANCG/XRCC9 and FANCA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 10320-10325

Yamashita, T., Kupfer, G.M., Näf, D., Suliman, A., Joenje, H., Asano, S. und D'Andrea, A.D. (1998). The Fanconi anemia pathway requires FAA phosphorylation and FAA/FAC nuclear accumulation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 13085-13090

Patentansprüche

1. Nukleinsäure, die
 - a) die in Fig. 1 bzw. Fig. 3 dargestellte Nukleotidsequenz oder einen Protein-codierenden Abschnitt davon,
 - b) eine den Sequenzen aus a) im Rahmen der Degeneration des genetischen Codes entsprechende Nukleotidsequenz,
 - c) eine mit den Sequenzen aus a) und/oder b) unter stringenten Bedingungen hybridisierende Nukleotidsequenz oder
 - d) eine zu den Sequenzen aus a) und/oder b) komplementäre Sequenz umfaßt.
2. Nukleinsäure gemäß Anspruch 1, die einen vorzugsweise mindestens 30 Nukleotide umfassenden Protein-codierenden Abschnitt der in Fig. 1 bzw. Fig. 3 dargestellten Nukleotidsequenz umfaßt.
3. Nukleinsäure, die eine Homologie von mehr als 65% zu der Nukleotidsequenz gemäß Anspruch 1 oder einem Abschnitt davon aufweist.
4. Modifizierte Nukleinsäure oder Nukleinsäureanalogon, die eine Nukleotidsequenz gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3 umfassen.
5. Rekombinanter Vektor, der mindestens eine Kopie einer Nukleinsäure gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3 oder einen Abschnitt davon enthält.
6. Rekombinanter Vektor gemäß Anspruch 5, der die Expression der Nukleinsäure in einer geeigneten Wirtszelle ermöglicht.
7. Mit einer Nukleinsäure gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3 oder einem Vektor gemäß Anspruch 5 oder 6 transformierte Zelle, ein entsprechender transgener Organismus oder Tiermodelle, die das Produkt der Nukleinsäure gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3 stabil exprimieren (knock-in) oder deren entsprechendes natürliches Gen gezielt zerstört wurde (knock-out).

8. Polypeptid oder Protein, oder dessen Salz, das von einer Nukleinsäure gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3 codiert ist.
9. Peptid gemäß Anspruch 8, das
 - a) die in Fig. 2 bzw. Fig. 4 dargestellte Aminosäuresequenz oder
 - b) eine Homologie von mehr als 60% zu der in Fig. 2 bzw. Fig. 4 dargestellten Aminosäuresequenz aufweist, oder dessen Salz.
10. Fragment des Peptids gemäß Anspruch 8 oder 9 mit mindestens 100 Aminosäuren oder dessen Salz.
11. Modifiziertes Polypeptid oder Protein, das eine Aminosäuresequenz gemäß Anspruch 8 oder 9 umfaßt.
12. Verfahren zur Herstellung des Peptids gemäß Anspruch 8 oder 9, das die Kultivierung von Zellen gemäß Anspruch 7 umfaßt sowie die Isolierung des Peptids gemäß Anspruch 8 oder 9.
13. Verwendung eines Peptids gemäß Anspruch 8 oder 9 oder von Fragmenten dieses Peptids als Immunogen zur Herstellung von Antikörpern.
14. Antikörper gegen ein Peptid gemäß Anspruch 8 oder 9.
15. Verfahren zur Identifizierung von Effektoren eines Polypeptids oder Proteins gemäß Anspruch 8 oder 9, mit dessen Hilfe verschiedene potentielle Effektorsubstanzen an Zellen getestet werden können, die das Polypeptid oder Protein exprimieren.
16. Substanz, die mit Hilfe des Verfahrens gemäß Anspruch 15 erhalten wurde und die mit mindestens einem Bereich des Peptid gemäß Anspruch 8 oder 9 reagiert und/oder dieses verändert.

17. Pharmazeutische Zusammensetzung, die als aktive Komponente
 - a) eine Nukleinsäure gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4,
 - b) einen Vektor gemäß Anspruch 5 oder 6,
 - c) eine Zelle gemäß Anspruch 7,
 - d) ein Peptid gemäß Anspruch 8, 9, 10 oder 11,
 - e) einen Antikörper gemäß Anspruch 14 umfaßt oder
 - f) eine Substanz gemäß Anspruch 16und pharmazeutisch übliche Träger-, Hilfs- und/oder Zusatzstoffe enthält.
18. Verwendung einer Zusammensetzung gemäß Anspruch 17 zur Diagnostik von Erkrankungen, die mit DNA-Reparatur-Defekten, Zellzyklus-Störungen, Cytopenien, Tumorgenese und/oder Tumorprogression assoziiert sind, oder einer Prädisposition solcher Erkrankungen.
19. Verwendung einer Zusammensetzung gemäß Anspruch 17 zur Therapie oder Prävention von Erkrankungen, die mit DNA-Reparatur-Defekten, Zellzyklus-Störungen, Cytopenien, Tumorgenese und/oder Tumorprogression assoziiert sind.
20. Verwendung einer Zusammensetzung gemäß Anspruch 17 zur Gentherapie von Erkrankungen, die mit DNA-Reparatur-Defekten, Zellzyklus-Störungen, Cytopenien, Tumorgenese und/oder Tumorprogression assoziiert sind.
21. Verfahren zur Diagnostik von Erkrankungen, die mit DNA-Reparatur-Defekten, Zellzyklus-Störungen, Cytopenien, Tumorgenese und/oder Tumorprogression assoziiert sind oder einer Prädisposition für solche Erkrankungen, bei dem man einen Patienten oder eine aus dem Patienten stammende Probe mit einer Zusammensetzung gemäß Anspruch 17 in Kontakt bringt und die Nukleotidsequenz und/oder die Expression einer Nukleinsäure gemäß Anspruch 1 bestimmt.
22. Verfahren zur Therapie oder Prävention von Erkrankungen, die mit DNA-Reparatur-Defekten, Zellzyklus-Störungen, Cytopenien, Tumorgenese

und/oder Tumorprogression assoziiert sind, bei dem man einem Patienten eine Zusammensetzung gemäß Anspruch 17 verabreicht, die die aktive Komponente in einer gegen die Erkrankung wirksamen Menge enthält.

Fig. 1

ACGAGCGGGGTTTGTAGCGGAGGAGGAGCGGGCGCCATGGCGGTTCTACTGGAGACCACTTTAGGC
GACGTCGTCATCGACTTGTACACCGAAGAACGGCCGCTGCTTGAATTTCTTGAAACTGTGC
AAAATAAAATATTACAATTATTGCCTTATTCACAATGTACAGAGGGATTTTATCATACAAACTGGC
GATCCTACAGGGACTGGCCGTGGAGGAGAGTCTATCTTTGGCCAACTGTATGGTGATCAAGCAAGC
TTTTTTGAGGCAGAAAAAGTCCCAAGAATTAAGCACAAGAAGAAAGGCACAGTGTCCATGGTGAAT
AATGGCAGTGATCAACATGGATCTCAGTTTCTTATCACACAGGAGAAAATCTAGATTATCTTGAT
GGTGTCCATACGGTGTTTGGTGAGGTGACAGAAGGCATGGACATAATTAAGAAAATTAATGAGACC
TTTGTTGACAAGGACTTTGTACCATATCAGGATATCAGGATAAATCATACGGTGATTTTAGATGAT
CCATTTGATGACCCTCCTGATTTATTAATCCCTGATCGATCACCGAACCTACAAGGGAACAATTA
GATAGTGGTTCGAATAGGAGCAGATGAAGAAATTGATGATTTCAAAGGAAGATCAGCTGAGGAAGTA
GAAGAAATAAAGGCAGAAAAAGAGGCTAAACTCAGGCTATACTTTTGGAGATGGTGGGAGACCTA
CCTGATGCAGATATTAAACCTCCAGAAAATGTACTGTTTGTGTGTAAATTGAACCCAGTGACCACA
GATGAGGATCTGGAAATAATATTCTCTAGATTTGGGCCAATAAGAAGTTGTGAAGTTATCCGAGAC
TGGAAGACAGGAGAGTCCCTCTGTTACGCTTTTATTGAATTTGAAAAGGAAGAAGATTGTGAGAAA
GCATTCTTCAAATGGACAATGTGCTTATAGATGACAGAAGAATACATGTGGATTTTAGCCAGTCG
GTTGCAAAGGTTAAATGGAAAGGAAAAGGTGGGAAATACACCAAGAGTGATTTCAAGGAGTATGAA
AAAGAACAGGATAAACCACCTAATTTGGTTCTGAAAGATAAAGTAAAGCCCCAACAGGATACAAAA
TACGATCTTATATTAGATGAGCAGGCCGAAGACTCAAATCAAGTCACTCACACACAAGTAAAAAA
CACAAGAAGAAAACCCATCACTGTTCTGAAGAGAAAGAAGATGAGGACTACATGCCAATCAAAAAT
ACTAATCAGGATATCTATAGAGAAATGGGGTTTGGTCACTATGAAGAAGAAGAAAGCTGTTGGGAG
AAACAAAAGAGTGAAAAGAGAGACCGAACTCAGAACCGAAGTCGTAGCCGATCTCGAGAGAGGGAT
GGCCATTATAGTAATAGTCATAAATCAAATACCAAACAGATCTTTATGAAAGAGAAAGGAGTAAA
AAGAGAGACCGAAGCAGAAGTCCAAAGAAGTCCAAAGATAAAGAAAAATCTAAGTATAGATTGAAAG
ATGAAGAGGCAGAATTGAGAGGCTAACATATTTACTCCTGGCCTACTTAAGAGTGCCAGGAAAGCA
GATGCTTAGATTTTGTGTCAAAGCTTGTTATTTTTTTCATACTAGGATTATGGTCTTTAGATTAAT
ACTGATTATATAGAGCACGGAAAGATAAAGAATTGAACATTTTCTTTGTATACTTTTTTACACTAA
TTTTATTGTTATACATAAATGGTAGTCTTCATTTTTGAAGTCTTACATTTTCACTCTTTTTTTAAT
GAAGTATTTCACTACAAAAATACATAAACGTATATATAAAGGGATAATAAATGTAAATATCTGT
GTACTCATCAGCCAGCTTAAGATACAGATGTTGTCGACGTTTTAGAAAGTCCCTAAGGCCCTCTCC
CTCTCAAATAATTATTTGGAATTTGTGTTTGTCAATTTGTCTATTATAGTTTTTACAACATACGTAT
GTATCTGTAAGTGAAATGTTAATTTTGTATGTTTCTG

Fig. 2

Met Ala Val Leu Leu Glu Thr Thr Leu Gly Asp Val Val Ile Asp Leu
Tyr Thr Glu Glu Arg Pro Arg Ala Cys Leu Asn Phe Leu Lys Leu Cys
Lys Ile Lys Tyr Tyr Asn Tyr Cys Leu Ile His Asn Val Gln Arg Asp
Phe Ile Ile Gln Thr Gly Asp Pro Thr Gly Thr Gly Arg Gly Gly Glu
Ser Ile Phe Gly Gln Leu Tyr Gly Asp Gln Ala Ser Phe Phe Glu Ala
Glu Lys Val Pro Arg Ile Lys His Lys Lys Lys Gly Thr Val Ser Met
Val Asn Asn Gly Ser Asp Gln His Gly Ser Gln Phe Leu Ile Thr Thr
Gly Glu Asn Leu Asp Tyr Leu Asp Gly Val His Thr Val Phe Gly Glu
Val Thr Glu Gly Met Asp Ile Ile Lys Lys Ile Asn Glu Thr Phe Val
Asp Lys Asp Phe Val Pro Tyr Gln Asp Ile Arg Ile Asn His Thr Val
Ile Leu Asp Asp Pro Phe Asp Asp Pro Pro Asp Leu Leu Ile Pro Asp
Arg Ser Pro Glu Pro Thr Arg Glu Gln Leu Asp Ser Gly Arg Ile Gly
Ala Asp Glu Glu Ile Asp Asp Phe Lys Gly Arg Ser Ala Glu Glu Val
Glu Glu Ile Lys Ala Glu Lys Glu Ala Lys Thr Gln Ala Ile Leu Leu
Glu Met Val Gly Asp Leu Pro Asp Ala Asp Ile Lys Pro Pro Glu Asn
Val Leu Phe Val Cys Lys Leu Asn Pro Val Thr Thr Asp Glu Asp Leu
Glu Ile Ile Phe Ser Arg Phe Gly Pro Ile Arg Ser Cys Glu Val Ile
Arg Asp Trp Lys Thr Gly Glu Ser Leu Cys Tyr Ala Phe Ile Glu Phe
Glu Lys Glu Glu Asp Cys Glu Lys Ala Phe Phe Lys Met Asp Asn Val
Leu Ile Asp Asp Arg Arg Ile His Val Asp Phe Ser Gln Ser Val Ala
Lys Val Lys Trp Lys Gly Lys Gly Gly Lys Tyr Thr Lys Ser Asp Phe
Lys Glu Tyr Glu Lys Glu Gln Asp Lys Pro Pro Asn Leu Val Leu Lys
Asp Lys Val Lys Pro Lys Gln Asp Thr Lys Tyr Asp Leu Ile Leu Asp
Glu Gln Ala Glu Asp Ser Lys Ser Ser His Ser His Thr Ser Lys Lys
His Lys Lys Lys Thr His His Cys Ser Glu Glu Lys Glu Asp Glu Asp
Tyr Met Pro Ile Lys Asn Thr Asn Gln Asp Ile Tyr Arg Glu Met Gly
Phe Gly His Tyr Glu Glu Glu Glu Ser Cys Trp Glu Lys Gln Lys Ser
Glu Lys Arg Asp Arg Thr Gln Asn Arg Ser Arg Ser Arg Ser Arg Glu
Arg Asp Gly His Tyr Ser Asn Ser His Lys Ser Lys Tyr Gln Thr Asp
Leu Tyr Glu Arg Glu Arg Ser Lys Lys Arg Asp Arg Ser Arg Ser Pro
Lys Lys Ser Lys Asp Lys Glu Lys Ser Lys Tyr Arg End

Fig. 3

GGTCAGTGGCTTCAGTTCACACGTGGCGCCAGCGGAGGCAGGTTGCTGTGTTTGTGCTTCCTTCTA
CAGCCAATATGAAAAGGCCTAAGTTAAAGAAAGCAAGTAAACGCATGACCTGCCATAAGCGGTATA
AAATCCAAAAAAGGTTGAGAACATCATCGAAAATTAAGAAAGGAGGCTAAAAAGCGGGGTCACA
AGAAGCCTAGGAAAGACCCAGGAGTTCCAAACAGTGCTCCCTTTAAGGAGGCTCTTCTTAGGGAAG
CTGAGCTAAGGAAACAGAGGCTTGAAGAACTAAACAGCAGCAGAACTTGACAGGCAGAAGGAAC
TAGAAAAGAAAAGAAAAGTTGAAACTAATCCTGATATTAAGCCATCAAATGTGGAACCTATGGAAA
AGGAGTTTGGGCTTTGCAAACTGAGAACAAAGCCAAGTCGGGCAAACAGAATTCAAAGAAGCTGT
ACTGCCAAGAAGCTTAAAAAGGTGATTGAAGCCTCCGATGTTGTCCTAGAGGTGTTGGATGCCAGAG
ATCCTCTTGCTTGCAGATGTCCTCAGGTAGAAGAGGCCATTGTCCAGAGTGGACAGAAAAAGCTGG
TACTTATATTAAATAAATCAGATCTGGTACCAAAGGAGAATTTGGAGAGCTGGCTAAATTATTTGA
AGAAAGAATTGCCAACAGTGGTGTTCAGAGCCTCAACAAAACCAAAGGATAAAGGGAAGATAACCA
AGCGTGTGAAGGCAAAGAAGAATGCTGCTCCATTGAGAAGTGAAGTCTGCTTTGGGAAAGAGGGCC
TTTGGAAGCTTCTTGAGGTTTTTCAGGAACTTGCAAGCAAAGCCATTCGGGTTGGAGTAATTGGTT
TCCCAAATGTGGGGAAAAGCAGCATTATCAATAGCTTAAAACAAGAACAGATGTGTAATGTTGGTG
TATCCATGGGGCTTACAAGGAGCATGCAAGTTGTCCCCTTGACAAACAGATCACAATCATAGATA
GTCCGAGCTTCATCGTATCTCCACTTAATTCCTCCTCTGCGCTTGCTCTGCGAAGTCCAGCAAGTA
TTGAAGTAGTAAAACCGATGGAGGCTGCCAGTGCCATCCTTTCCAGGCTGATGCTCGACAGGTAG
TACTGAAATATACTGTCCCAGGCTACAGGAATTCTCTGGAATTTTTTACTGTGCTTGCTCAGAGAA
GAGGTATGCACCAAAAAGGTGGAATCCCAATGTTGAAGGTGCTGCCAACTGCTGTGGTCTGAGT
GGACAGGTGCCTCATTAGCTTACTATTGCCATCCCCCTACATCTTGGAATCCTCCTCCATATTTTA
ATGAGAGTATTGTGGTAGACATGAAAAGCGGCTTCAATCTGGAAGAACTGGAAAAGAACAAATGCAC
AGAGCATAAGAGCCATCAAGGGCCCTCATTGGCCAATAGCATCCTTTCCAGTCTTCCGGTCTGA
CAAATGGAATAATAGAAGAAAAGGACATACATGAAGAATTGCCAAAACGGAAAGAAAGGAAGCAGG
AGGAGAGGGAGGATGACAAAGACAGTGACCAGGAACTGTTGATGAAGAAGTTGATGAAAACAGCT
CAGGCATGTTTGCTGCAGAAGAGACAGGGGAGGCACTGTCTGAGGAGACTACAGCAGGTGAACAGT
CTACAAGGTCTTTTATCTTGATAAAATCATTGAAGAGGATGATGCTTATGACTTCAGTACAGATT
ATGTGTAACAGAACAAATGGCTTTTTATGATTTTTTTTTTTAACATTTTAAGCAGACTGCTAAAAGT
GTTCTCTGTATAAGTTATGGTATGCATGAGCTGTGTAAATTTTGTGAATATGTATTATATTAAAC
CAGGCAACTTGAATCCCTAAATTCGTAAAAGACAATTCATCTCATTGTGAGTGGAAGTAGTTAT
CTGGAATAAAAAAAA

Fig. 4

Met Lys Arg Pro Lys Leu Lys Lys Ala Ser Lys Arg Met Thr Cys His
Lys Arg Tyr Lys Ile Gln Lys Lys Val Arg Glu His His Arg Lys Leu
Arg Lys Glu Ala Lys Lys Arg Gly His Lys Lys Pro Arg Lys Asp Pro
Gly Val Pro Asn Ser Ala Pro Phe Lys Glu Ala Leu Leu Arg Glu Ala
Glu Leu Arg Lys Gln Arg Leu Glu Glu Leu Lys Gln Gln Gln Lys Leu
Asp Arg Gln Lys Glu Leu Glu Lys Lys Arg Lys Leu Glu Thr Asn Pro
Asp Ile Lys Pro Ser Asn Val Glu Pro Met Glu Lys Glu Phe Gly Leu
Cys Lys Thr Glu Asn Lys Ala Lys Ser Gly Lys Gln Asn Ser Lys Lys
Leu Tyr Cys Gln Glu Leu Lys Lys Val Ile Glu Ala Ser Asp Val Val
Leu Glu Val Leu Asp Ala Arg Asp Pro Leu Gly Cys Arg Cys Pro Gln
Val Glu Glu Ala Ile Val Gln Ser Gly Gln Lys Lys Leu Val Leu Ile
Leu Asn Lys Ser Asp Leu Val Pro Lys Glu Asn Leu Glu Ser Trp Leu
Asn Tyr Leu Lys Lys Glu Leu Pro Thr Val Val Phe Arg Ala Ser Thr
Lys Pro Lys Asp Lys Gly Lys Ile Thr Lys Arg Val Lys Ala Lys Lys
Asn Ala Ala Pro Phe Arg Ser Glu Val Cys Phe Gly Lys Glu Gly Leu
Trp Lys Leu Leu Gly Gly Phe Gln Glu Thr Cys Ser Lys Ala Ile Arg
Val Gly Val Ile Gly Phe Pro Asn Val Gly Lys Ser Ser Ile Ile Asn
Ser Leu Lys Gln Glu Gln Met Cys Asn Val Gly Val Ser Met Gly Leu
Thr Arg Ser Met Gln Val Val Pro Leu Asp Lys Gln Ile Thr Ile Ile
Asp Ser Pro Ser Phe Ile Val Ser Pro Leu Asn Ser Ser Ser Ala Leu
Ala Leu Arg Ser Pro Ala Ser Ile Glu Val Val Lys Pro Met Glu Ala
Ala Ser Ala Ile Leu Ser Gln Ala Asp Ala Arg Gln Val Val Leu Lys
Tyr Thr Val Pro Gly Tyr Arg Asn Ser Leu Glu Phe Phe Thr Val Leu
Ala Gln Arg Arg Gly Met His Gln Lys Gly Gly Ile Pro Asn Val Glu
Gly Ala Ala Lys Leu Leu Trp Ser Glu Trp Thr Gly Ala Ser Leu Ala
Tyr Tyr Cys His Pro Pro Thr Ser Trp Thr Pro Pro Pro Tyr Phe Asn
Glu Ser Ile Val Val Asp Met Lys Ser Gly Phe Asn Leu Glu Glu Leu
Glu Lys Asn Asn Ala Gln Ser Ile Arg Ala Ile Lys Gly Pro His Leu
Ala Asn Ser Ile Leu Phe Gln Ser Ser Gly Leu Thr Asn Gly Ile Ile
Glu Glu Lys Asp Ile His Glu Glu Leu Pro Lys Arg Lys Glu Arg Lys
Gln Glu Glu Arg Glu Asp Asp Lys Asp Ser Asp Gln Glu Thr Val Asp
Glu Glu Val Asp Glu Asn Ser Ser Gly Met Phe Ala Ala Glu Glu Thr
Gly Glu Ala Leu Ser Glu Glu Thr Thr Ala Gly Glu Gln Ser Thr Arg

Ser Phe Ile Leu Asp Lys Ile Ile Glu Glu Asp Asp Ala Tyr Asp Phe
Ser Thr Asp Tyr Val End

Fig. 5

Bco I: 5'-ACCAGCCTCTTGCTGAGTGGAGATG-3'
Bco II: 5'-GACAAGCCGACAACCTTGATTGGAG-3'

Fig. 6

FANCIP5-SP1: 5'-CTCTGTTTCCTTAGCTCAGC-3'
FANCIP5-SP2: 5'-TAGGCTTCTTG TGACCCTGC-3'

Fig. 7

FANCIP4-P: 5'-AGGAGCGGGCGCCATGGCG-3'
FANCIP4-M: 5'-TGTTAGCCTCTCAATTCTGCC-3'

Fig. 8

FANCIP5-P: 5'-ACAGCCAATATGAAAAGGCC-3'
FANCIP5-M: 5'-AAAGCCATTGTTCTGTTACAC-3'

SEQUENZPROTOKOLL

<110> MultiGene Biotech GmbH

<120> cDNA-Sequenzen von zwei Interaktoren FANCIP4 und
FANCIP5 der Fanconi-Anämie-Proteine der
Komplementationsgruppen A und C

<130> Anm. 99/004 WO

<140>

<141>

<150> DE 199 58 680.2

<151> 1999-12-06

<160> 12

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 2017

<212> DNA

<213> Unbekannt

<220>

<223> Beschreibung des unbekannten Organismus: unbekannt

<400> 1

```
acgagcgggg tttgtagcgg aggaggagcg ggcgccatgg cggttctact ggagaccact 60
ttaggcgacg tcgtcatcga cttgtacacc gaagaacggc cgcgtgcctg cttgaatttc 120
ttgaaactgt gcaaaataaa atattacaat tattgcctta ttcacaatgt acagagggat 180
tttatcatat aaactggcga tcctacaggg actggccgtg gaggagagtc tatctttggc 240
caactgtatg gtgatcaagc aagctttttt gaggcagaaa aagtcccaag aattaagcac 300
aagaagaaaag gcacagtgtc catggtgaat aatggcagtg atcaacatgg atctcagttt 360
cttatcacca caggagaaaa tctagattat cttgatggtg tccatacggg gtttggtgag 420
gtgacagaag gcatggacat aattaagaaa attaatgaga cctttgttga caaggacttt 480
gtaccatatac aggatatcag gataaatcat acggtgattt tagatgatcc atttgatgac 540
cctcctgatt tattaatccc tgatcgatca ccagaacctt caagggaaca attagatagt 600
ggtcgaatag gagcagatga agaaattgat gatttcaaag gaagatcagc tgaggaagta 660
gaagaaataa aggcagaaaa agaggctaaa actcaggcta tacttttgga gatggtggga 720
gacctacctg atgcagatat taaacctcca gaaaatgtac tgtttggtg taaattgaac 780
ccagtgacca cagatgagga tctggaaaata atattctcta gatttggggc aataagaagt 840
tgtgaagtta tccgagactg gaagacagga gagtccctct gttacgcttt tattgaattt 900
gaaaaggaag aagattgtga gaaagcattc ttcaaaatgg acaatgtgct tatagatgac 960
agaagaatac atgtggattt tagccagtcg gttgcaaagg ttaaattggaa aggaaaagg 1020
gggaaataca ccaagagtga tttcaaggag tatgaaaaag aacaggataa accacctaat 1080
ttggttctga aagataaagt aaagcccaaa caggatacaa aatacgatct tatattagat 1140
gagcaggccg aagactcaaa atcaagtcac tcacacacaa gtaaaaaaca caagaagaaa 1200
acccatcact gttctgaaga gaaagaagat gaggactaca tgccaatcaa aaatacta 1260
caggatatct atagagaaat ggggttttgt cactatgaag aagaagaaaag ctggtgggag 1320
aaacaaaaga gtgaaaagag agaccgaact cagaaccgaa gtcgtagccg atctcgagag 1380
agggatggcc attatagtaa tagtcataaa tcaaaatacc aaacagatct ttatgaaaga 1440
gaaaggagta aaaagagaga ccgaagcaga agtccaaaga agtccaaaga taaagaaaaa 1500
tctaagtata gatgaaagat gaagaggcag aattgagagg ctaacatatt tactcctggc 1560
ctacttaaga gtgccaggaa agcagatgct tagattttgt gtcaaagctt gttatttttt 1620
tcatactagg attatggtct ttagattaat actgattata tagagcacgg aaagataaag 1680
aattgaacat tttctttgta tactttttta cactaatatt attgttatac ataaattgta 1740
gtcttcattt ttgaagtctt acattttcac tcttttttta atgaagtatt tcatactaca 1800
aaaatacata aacgtatata taaagggata ataaatgtaa atatctgtgt actcatcagc 1860
cagcttaaga tacagatgtt gtcgacgttt tagaagttcc ctaaggccct ctccctctca 1920
aataattatt tggaattttg tgtttgtcat ttgtctatta tagttttaca acatacgtat 1980
```

gtatctgtaa gtgaaatgtt aattttgtat gtttctg

2017

<210> 2

<211> 492

<212> PRT

<213> Unbekannt

<220>

<223> Beschreibung des unbekannten Organismus: unbekannt

<400> 2

Met Ala Val Leu Leu Glu Thr Thr Leu Gly Asp Val Val Ile Asp Leu
 1 5 10 15

Tyr Thr Glu Glu Arg Pro Arg Ala Cys Leu Asn Phe Leu Lys Leu Cys
 20 25 30

Lys Ile Lys Tyr Tyr Asn Tyr Cys Leu Ile His Asn Val Gln Arg Asp
 35 40 45

Phe Ile Ile Gln Thr Gly Asp Pro Thr Gly Thr Gly Arg Gly Gly Glu
 50 55 60

Ser Ile Phe Gly Gln Leu Tyr Gly Asp Gln Ala Ser Phe Phe Glu Ala
 65 70 75 80

Glu Lys Val Pro Arg Ile Lys His Lys Lys Lys Gly Thr Val Ser Met
 85 90 95

Val Asn Asn Gly Ser Asp Gln His Gly Ser Gln Phe Leu Ile Thr Thr
 100 105 110

Gly Glu Asn Leu Asp Tyr Leu Asp Gly Val His Thr Val Phe Gly Glu
 115 120 125

Val Thr Glu Gly Met Asp Ile Ile Lys Lys Ile Asn Glu Thr Phe Val
 130 135 140

Asp Lys Asp Phe Val Pro Tyr Gln Asp Ile Arg Ile Asn His Thr Val
 145 150 155 160

Ile Leu Asp Asp Pro Phe Asp Asp Pro Pro Asp Leu Leu Ile Pro Asp
 165 170 175

Arg Ser Pro Glu Pro Thr Arg Glu Gln Leu Asp Ser Gly Arg Ile Gly
 180 185 190

Ala Asp Glu Glu Ile Asp Asp Phe Lys Gly Arg Ser Ala Glu Glu Val
 195 200 205

Glu Glu Ile Lys Ala Glu Lys Glu Ala Lys Thr Gln Ala Ile Leu Leu
 210 215 220

Glu Met Val Gly Asp Leu Pro Asp Ala Asp Ile Lys Pro Pro Glu Asn
 225 230 235 240

Val Leu Phe Val Cys Lys Leu Asn Pro Val Thr Thr Asp Glu Asp Leu
 245 250 255

Glu Ile Ile Phe Ser Arg Phe Gly Pro Ile Arg Ser Cys Glu Val Ile
 260 265 270

Arg Asp Trp Lys Thr Gly Glu Ser Leu Cys Tyr Ala Phe Ile Glu Phe
 275 280 285
 Glu Lys Glu Glu Asp Cys Glu Lys Ala Phe Phe Lys Met Asp Asn Val
 290 295 300
 Leu Ile Asp Asp Arg Arg Ile His Val Asp Phe Ser Gln Ser Val Ala
 305 310 315 320
 Lys Val Lys Trp Lys Gly Lys Gly Gly Lys Tyr Thr Lys Ser Asp Phe
 325 330 335
 Lys Glu Tyr Glu Lys Glu Gln Asp Lys Pro Pro Asn Leu Val Leu Lys
 340 345 350
 Asp Lys Val Lys Pro Lys Gln Asp Thr Lys Tyr Asp Leu Ile Leu Asp
 355 360 365
 Glu Gln Ala Glu Asp Ser Lys Ser Ser His Ser His Thr Ser Lys Lys
 370 375 380
 His Lys Lys Lys Thr His His Cys Ser Glu Glu Lys Glu Asp Glu Asp
 385 390 395 400
 Tyr Met Pro Ile Lys Asn Thr Asn Gln Asp Ile Tyr Arg Glu Met Gly
 405 410 415
 Phe Gly His Tyr Glu Glu Glu Glu Ser Cys Trp Glu Lys Gln Lys Ser
 420 425 430
 Glu Lys Arg Asp Arg Thr Gln Asn Arg Ser Arg Ser Arg Ser Arg Glu
 435 440 445
 Arg Asp Gly His Tyr Ser Asn Ser His Lys Ser Lys Tyr Gln Thr Asp
 450 455 460
 Leu Tyr Glu Arg Glu Arg Ser Lys Lys Arg Asp Arg Ser Arg Ser Pro
 465 470 475 480
 Lys Lys Ser Lys Asp Lys Glu Lys Ser Lys Tyr Arg
 485 490

<210> 3

<211> 1929

<212> DNA

<213> Unbekannt

<220>

<223> Beschreibung des unbekannten Organismus: unbekannt

<400> 3

ggtcagtggc ttcagttcac acgtggcgcc agcggaggca gggtgctgtg tttgtgcttc 60
 cttctacagc caatatgaaa aggcctaagt taaagaaagc aagtaaagc atgacctgcc 120
 ataagcggta taaaatccaa aaaaagggtc gagaacatca tcgaaaatta agaaaggagg 180
 ctaaaaagcg gggtcacaaag aagcctagga aagaccagag agttccaaac agtgctccct 240
 ttaaggaggc tcttcttagg gaagctgagc taaggaaaca gaggcttgaa gaactaaaac 300
 agcagcagaa acttgacagg cagaaggaac tagaaaagaa aagaaaactt gaaactaatc 360
 ctgatattaa gccatcaa atgtggaaccta tggaaaagga gtttgaggctt tgcaaaactg 420
 agaacaaaagc caagtcgggc aaacagaatt caaagaagct gtactgccaa gaacttaaaa 480

```

aggtgattga agcctccgat gttgtcctag aggtggttga tgccagagat cctcttggtt 540
gcagatgtcc tcaggtagaa gaggccattg tccagagtgg acagaaaaag ctggtactta 600
tattaaataa atcagatctg gtaccaaagg agaatttggg gagctggcta aattatttga 660
agaaagaatt gccaacagtg gtgttcagag cctcaacaaa accaaaggat aaagggaaga 720
taaccaagcg tgtgaaggca aagaagaatg ctgctccatt cagaagtga gtctgctttg 780
ggaaagaggg cctttggaaa cttcttgagg gttttcagga aacttgagc aaagccattc 840
gggttgaggt aattggtttc ccaaagtgtg ggaaaagcag cattatcaat agcttaaaac 900
aagaacagat gtgtaatgtt ggtgtatcca tggggcttac aaggagcatg caagttgtcc 960
ccttgacaaa acagatcaca atcatagata gtccgagctt catcgtatct ccacttaatt 1020
cctcctctgc gcttgctctg cgaagtccag caagtattga agtagtaaaa ccgatggagg 1080
ctgccagtgc catcctttcc caggctgatg ctgcacaggt agtactgaaa tatactgtcc 1140
caggctacag gaattctctg gaatttttta ctgtgcttgc tcagagaaga ggtatgcacc 1200
aaaaagggtg aatcccaaat gttgaagggt ctgccaaaact gctgtggtct gagtggacag 1260
gtgcctcatt agcttactat tgccatcccc ctacatcttg gactcctcct ccatatttta 1320
atgagagtat tgtggtagac atgaaaagcg gcttcaatct ggaagaactg gaaaagaaca 1380
atgcacagag cataagagcc atcaagggcc ctcatattgg caatagcatc cttttccagt 1440
cttcgggtct gacaaatgga ataatagaag aaaaggacat acatgaagaa ttgccaaaac 1500
ggaaagaaag gaagcaggag gagagggagg atgacaaaga cagtgaccag gaaactgttg 1560
atgaagaagt tgatgaaaac agctcaggca tgtttgctgc agaagagaca ggggaggcac 1620
tgtctgagga gactacagca ggtgaacagt ctacaaggct ttttatcttg gataaaatca 1680
ttgaagagga tgatgcttat gacttcagta cagattatgt gtaacagaac aatggctttt 1740
tatgatTTTT ttttttaaca ttttaagcag actgctaaaa ctgttctctg tataagttat 1800
ggtatgcatg agctgtgtaa attttgtgaa tatgtattat attaaaacca ggcaacttgg 1860
aatccctaaa ttcgtaaaaa gacaattcat ctcatgtga gtggaagtag ttatctggaa 1920
taaaaaaaa 1929

```

<210> 4

<211> 549

<212> PRT

<213> Unbekannt

<220>

<223> Beschreibung des unbekannten Organismus: unbekannt

<400> 4

```

Met Lys Arg Pro Lys Leu Lys Lys Ala Ser Lys Arg Met Thr Cys His
  1                      5                      10                      15

```

```

Lys Arg Tyr Lys Ile Gln Lys Lys Val Arg Glu His His Arg Lys Leu
          20                      25                      30

```

```

Arg Lys Glu Ala Lys Lys Arg Gly His Lys Lys Pro Arg Lys Asp Pro
          35                      40                      45

```

```

Gly Val Pro Asn Ser Ala Pro Phe Lys Glu Ala Leu Leu Arg Glu Ala
          50                      55                      60

```

```

Glu Leu Arg Lys Gln Arg Leu Glu Glu Leu Lys Gln Gln Gln Lys Leu
          65                      70                      75                      80

```

```

Asp Arg Gln Lys Glu Leu Glu Lys Lys Arg Lys Leu Glu Thr Asn Pro
          85                      90                      95

```

```

Asp Ile Lys Pro Ser Asn Val Glu Pro Met Glu Lys Glu Phe Gly Leu
          100                      105                      110

```

```

Cys Lys Thr Glu Asn Lys Ala Lys Ser Gly Lys Gln Asn Ser Lys Lys
          115                      120                      125

```

```

Leu Tyr Cys Gln Glu Leu Lys Lys Val Ile Glu Ala Ser Asp Val Val
          130                      135                      140

```

Leu Glu Val Leu Asp Ala Arg Asp Pro Leu Gly Cys Arg Cys Pro Gln
 145 150 155 160
 Val Glu Glu Ala Ile Val Gln Ser Gly Gln Lys Lys Leu Val Leu Ile
 165 170 175
 Leu Asn Lys Ser Asp Leu Val Pro Lys Glu Asn Leu Glu Ser Trp Leu
 180 185 190
 Asn Tyr Leu Lys Lys Glu Leu Pro Thr Val Val Phe Arg Ala Ser Thr
 195 200 205
 Lys Pro Lys Asp Lys Gly Lys Ile Thr Lys Arg Val Lys Ala Lys Lys
 210 215 220
 Asn Ala Ala Pro Phe Arg Ser Glu Val Cys Phe Gly Lys Glu Gly Leu
 225 230 235 240
 Trp Lys Leu Leu Gly Gly Phe Gln Glu Thr Cys Ser Lys Ala Ile Arg
 245 250 255
 Val Gly Val Ile Gly Phe Pro Asn Val Gly Lys Ser Ser Ile Ile Asn
 260 265 270
 Ser Leu Lys Gln Glu Gln Met Cys Asn Val Gly Val Ser Met Gly Leu
 275 280 285
 Thr Arg Ser Met Gln Val Val Pro Leu Asp Lys Gln Ile Thr Ile Ile
 290 295 300
 Asp Ser Pro Ser Phe Ile Val Ser Pro Leu Asn Ser Ser Ser Ala Leu
 305 310 315 320
 Ala Leu Arg Ser Pro Ala Ser Ile Glu Val Val Lys Pro Met Glu Ala
 325 330 335
 Ala Ser Ala Ile Leu Ser Gln Ala Asp Ala Arg Gln Val Val Leu Lys
 340 345 350
 Tyr Thr Val Pro Gly Tyr Arg Asn Ser Leu Glu Phe Phe Thr Val Leu
 355 360 365
 Ala Gln Arg Arg Gly Met His Gln Lys Gly Gly Ile Pro Asn Val Glu
 370 375 380
 Gly Ala Ala Lys Leu Leu Trp Ser Glu Trp Thr Gly Ala Ser Leu Ala
 385 390 395 400
 Tyr Tyr Cys His Pro Pro Thr Ser Trp Thr Pro Pro Pro Tyr Phe Asn
 405 410 415
 Glu Ser Ile Val Val Asp Met Lys Ser Gly Phe Asn Leu Glu Glu Leu
 420 425 430
 Glu Lys Asn Asn Ala Gln Ser Ile Arg Ala Ile Lys Gly Pro His Leu
 435 440 445
 Ala Asn Ser Ile Leu Phe Gln Ser Ser Gly Leu Thr Asn Gly Ile Ile
 450 455 460

Glu Glu Lys Asp Ile His Glu Glu Leu Pro Lys Arg Lys Glu Arg Lys
 465 470 475 480

Gln Glu Glu Arg Glu Asp Asp Lys Asp Ser Asp Gln Glu Thr Val Asp
 485 490 495

Glu Glu Val Asp Glu Asn Ser Ser Gly Met Phe Ala Ala Glu Glu Thr
 500 505 510

Gly Glu Ala Leu Ser Glu Glu Thr Thr Ala Gly Glu Gln Ser Thr Arg
 515 520 525

Ser Phe Ile Leu Asp Lys Ile Ile Glu Glu Asp Asp Ala Tyr Asp Phe
 530 535 540

Ser Thr Asp Tyr Val
 545

<210> 5

<211> 25

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Primer

<400> 5

accagcctct tgctgagtgg agatg

25

<210> 6

<211> 25

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Primer

<400> 6

gacaagccga caaccttgat tggag

25

<210> 7

<211> 20

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Primer

<400> 7

ctctgtttcc ttagctcagc

20

<210> 8

<211> 20

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Primer

<400> 8

taggcttctt gtgaccctgc

20

<210> 9

<211> 19

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Primer

<400> 9

aggagcgggc gccatggcg

19

<210> 10

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Primer

<400> 10

tgtttagcctc tcaattctgc c

21

<210> 11

<211> 20

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Primer

<400> 11

acagccaata tgaaaaggcc

20

<210> 12

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Primer

<400> 12

aaagccattg ttctgttaca c

21